

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学 号: 21620121152325

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

植物根际土壤稀有放线菌选择分离及两株  
新种鉴定

Selective Isolation of Rare Actinomycetes from Rhizosphere  
Soil and Identification of Two Novel Strains

黎 丹

指导教师姓名: 宋 思 扬 教 授

吴 莹 莹 助 理 教 授

专 业 名 称 : 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2 0 1 5 年 5 月

论文答辩时间: 2 0 1 5 年 5 月

学位授予日期: 2 0 1 5 年 6 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2015 年 5 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

## 目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
1 前 言.....	1
1.1 放线菌在微生物系统学中的地位及研究进展 .....	1
1.2 稀有放线菌资源的研究进展 .....	2
1.2.1 稀有放线菌的分类地位.....	2
1.2.2 稀有放线菌的研究意义及研究进展.....	2
1.3 稀有放线菌选择分离方法研究进展 .....	4
1.3.1 样品来源的选择.....	5
1.3.2 预处理方法.....	6
1.3.3 培养基的设计.....	7
1.3.4 抑制剂的选择.....	9
1.4 放线菌分类学研究方法及发展趋势 .....	10
1.4.1 经典分类方法.....	10
1.4.2 化学分类.....	10
1.4.3 分子分类.....	14
1.4.4 放线菌分类学研究发展趋势.....	16
1.5 本课题研究的目的是、意义及内容 .....	17
2 材料与amp;方法 .....	18
2.1 材料.....	18
2.1.1 样品来源.....	18
2.1.2 实验菌种来源.....	19
2.1.3 常用培养基.....	19
2.1.4 常用试剂.....	23
2.1.5 主要仪器.....	28
2.2 方法.....	29

2.2.1 稀有放线菌的选择分离、纯化及保藏.....	29
2.2.2 菌株排重及 16S rRNA 分子鉴定.....	31
2.2.3 多相分类研究.....	34
2.2.4 生物活性测定.....	48
<b>3 结果与分析 .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1 放线菌的分离与鉴定 .....</b>	<b>51</b>
3.1.1 聚乳酸-明胶 (PLA-G) 培养基选择分离效果.....	51
3.1.2 海藻糖-脯氨酸 (YIM 212) 培养基选择分离效果.....	52
3.1.3 不同来源植物根际土壤的放线菌多样性.....	54
<b>3.2 稀有放线菌新种鉴定 .....</b>	<b>54</b>
3.2.1 菌株 XMU 506 多相分类鉴定 .....	55
3.2.2 菌株 XMU 706 多相分类鉴定 .....	63
<b>3.3 植物根际土壤放线菌生物活性 .....</b>	<b>76</b>
3.3.1 抗菌活性.....	76
3.3.2 抗肿瘤活性.....	79
<b>4 讨论与结论 .....</b>	<b>80</b>
<b>4.1 讨论.....</b>	<b>80</b>
4.1.1 不同培养基对稀有放线菌选择分离效果比较.....	80
4.1.2 不同来源植物根际土壤中的放线菌多样性.....	81
4.1.3 放线菌的多相分类技术.....	82
4.1.4 菌株 XMU 506 和 XMU 706 的多相分类鉴定 .....	83
4.1.5 放线菌的生物活性测定.....	84
<b>4.2 结论与展望 .....</b>	<b>85</b>
<b>参 考 文 献 .....</b>	<b>87</b>
<b>附 录.....</b>	<b>95</b>
<b>攻读硕士学位期间学术论文成果 .....</b>	<b>111</b>
<b>致 谢.....</b>	<b>112</b>

# Contents

<b>Abstract in Chinese.....</b>	<b>I</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>III</b>
<b>1 Preface.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Advances in systematics of actinomycetes .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Research status of rare actinomycetes .....</b>	<b>2</b>
1.2.1 The systematic status of rare actinomycetes .....	2
1.2.2 Progress and significance of the study on rare actinomycetes.....	2
<b>1.3 Advances in selective isolation of rare actinomycetes .....</b>	<b>4</b>
1.3.1 Different sources of samples.....	5
1.3.2 Pretreatment methods.....	6
1.3.3 Design of selective medium.....	7
1.3.4 The choice of antibiotics .....	9
<b>1.4 Research methods and development trend of microbial taxonomy .....</b>	<b>10</b>
1.4.1 Traditional taxonomy .....	10
1.4.2 Chemical taxonomy .....	10
1.4.3 Molecular taxonomy .....	14
1.4.4 Development trend of taxonomy for actinomycetes .....	16
<b>1.5 Purpose, Contents and Significance of this thesis .....</b>	<b>17</b>
<b>2 Materials and Methods.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Materials .....</b>	<b>18</b>
2.1.1 Sources of the soil samples .....	18
2.1.2 Sources of experimental strains .....	19
2.1.3 Media for microorganisms .....	19
2.1.4 Reagents .....	23
2.1.5 Apparatus .....	28
<b>2.2 Methods.....</b>	<b>29</b>

2.2.1 Selective isolation, purification and preservation of actinomycetes...	29
2.2.2 Repetitive strains elimination and 16S rRNA gene identification .....	31
2.2.3 Polyphasic taxonomy .....	34
2.2.4 Bioactivities detection.....	48
<b>3 Results and Analysis .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1 Selective isolation and identification of actinomycetes .....</b>	<b>51</b>
3.1.1 Selective isolation result of PLA-Gelatin medium .....	51
3.1.2 Selective isolation result of YIM 212 medium .....	52
3.1.3 Diversity of actinomycetes from different rhizosphere soil samples..	54
<b>3.2 Novel species identification .....</b>	<b>54</b>
3.2.1 Polyphasic identification of strain XMU 506 .....	55
3.2.2 Polyphasic identification of strain XMU 706 .....	63
<b>3.3 Bioactivities detection of the isolated actinomycetes .....</b>	<b>76</b>
3.3.1 Detection of the antimicrobial activity .....	76
3.3.2 Detection of the antitumor activity .....	79
<b>4 Discussion and Conclusion.....</b>	<b>80</b>
<b>4.1 Discussion.....</b>	<b>80</b>
4.1.1 Selective isolation efficiency of different media .....	80
4.1.2 Diversity of actinomycetes from different rhizosphere soil samples..	81
4.1.3 Polyphasic taxonomy techniques .....	82
4.1.4 Polyphasic identification of strain XMU 506 and XMU 706 .....	83
4.1.5 Bioactivities detection of actinomycetes .....	84
<b>4.2 Conclusion and Prospect .....</b>	<b>85</b>
<b>References .....</b>	<b>87</b>
<b>Appendix .....</b>	<b>95</b>
<b>Publications .....</b>	<b>111</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>112</b>

## 摘 要

放线菌的次级代谢产物是重要的药物资源,目前已发现的数万种天然抗生素中约 70%是由放线菌所产生的。近年来,由于从链霉菌中不断分离得到重复的活性化合物,继而人们逐渐将目光转向稀有放线菌。稀有放线菌种类多样,并且具有某些不同于链霉菌的特殊代谢途径,因而更有可能产生结构新颖、生物活性独特的化合物,具有极大开发潜力。

本文以采自厦门翔安香山、南京中山植物园和玄武湖公园的植物根际土壤作为分离源,采用聚乳酸-明胶(PLA-G)培养基和海藻糖-脯氨酸(YIM 212)培养基进行稀有放线菌的选择性分离。从 17 份植物根际土样中总共分离到 178 株放线菌,其中 148 株分离自 PLA-G 培养基,30 株分离自 YIM 212 培养基;107 株分离自翔安样品,71 株分离自南京样品。根据菌株培养形态特征和 16S rRNA 基因限制性片段长度多态性分析(RFLP)进行菌株排重,并对排重后剩下的 126 株放线菌进行 16S rRNA 分子鉴定。测序结果显示,有 27 株为稀有放线菌,占放线菌总数的 15.2%,其余均为链霉菌属菌株。稀有放线菌归入 9 个属:微杆菌属(*Microbacterium*) 5 株,拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*) 4 株,韩国生工菌属(*Kribbella*) 4 株,野野村菌属(*Nonomuraea*) 4 株,小单孢菌属(*Micromonospora*) 3 株,链孢囊菌属(*Streptosporangium*) 3 株,拟孢囊菌属(*Kibdelosporangium*) 2,纤维微菌属(*Cellulosimicrobium*) 1 株和栖白蚁菌属(*Isoptericola*) 1 株。除一株拟无枝酸菌以外,其余稀有放线菌均分离自 PLA-G 培养基。由此说明聚乳酸-明胶培养基是一种对于稀有放线菌选择分离具有良好效果的培养基。此外,不同地区来源的土样对稀有放线菌的分离效果也有一定影响。

对两株稀有放线菌 XMU 506 和 XMU 706 进行了形态分析、生理生化特征和细胞化学组分分析以及分子鉴定等多相分类研究,从表型、基因型和系统发育三个层次进行系统分析,并最终确定其新种地位。XMU 506 为拟孢囊菌属的一个新的分类单元,命名为马樱丹拟孢囊菌(*Kibdelosporangium lantanae*); XMU 706 为韩国生工菌属的一个新的分类单元,命名为紫茉莉韩国生工菌(*Kribbella mirabilis*)。



本文还对分离到的所有放线菌进行液体小量发酵,并测定其发酵粗提物的抗菌和抗肿瘤活性。采用滤纸片法,分别以金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、藤黄微球菌、耻垢分枝杆菌、大肠杆菌、黑曲霉和白色假丝酵母作为指示菌进行抗菌活性测定。所测定的 178 株菌当中,有 82 株菌对一种或多种指示菌表现出抗菌活性,占供测菌株的 46.1%。采用 MTT 法,分别以人胃腺癌细胞 BGC-823、人肝癌细胞 HepG-2、人乳腺癌细胞 MCF-7 和人肺癌细胞 A549 四株肿瘤细胞作为指示细胞株进行抗肿瘤活性测定,筛选到 60 株放线菌对一种或多种肿瘤细胞具有抑制作用,占供测菌株的 33.7%。对于表现出较强的抗菌或抗肿瘤活性的菌株,尤其是稀有放线菌,有待进一步的天然产物化学研究,并有望从这些菌株当中分离到活性良好或结构新颖的化合物,为微生物药物研发提供了有利资源。

**关键词:** 稀有放线菌; 选择分离; 多相分类; 活性测定

## Abstract

Natural products are very important source of medicine, especially the secondary metabolites of actinomycetes. There are about 70% of natural antibiotics are produced by actinomycetes. However, many repetitive active compounds are found from streptomycetes in recent years, so scientists concentrated on another group, rare actinomycetes, which are more likely to produce novel active compounds and make a great contribution to the discovery of new drugs.

In this study, the rhizosphere soil samples were collected from Xiangshan mountain of Xiamen city and Zhongshan Botanical Garden, Xuanwu Lake Park of Nanjing City. Poly (L-lactide)-gelatin (PLA-G) medium and trehalose-proline (YIM 212) medium were used for rare actinomycetes isolation. A total of 178 actinomycetes were isolated from the rhizosphere soil samples. Among these actinomycetes, 148 strains were isolated from PLA-G medium, the other 30 strains were isolated from YIM 212 medium; and 107 strains were isolated from the Xiamen samples, the other 71 strains were isolated from Nanjing samples. The repetitive strains were excluded by comparison of the morphological characteristics and 16S rRNA gene restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. According to the 16S rRNA gene identification results, 27 strains (21.4%) were classified as rare actinomycetes, which belongs to 9 genus, including *Microbacterium* (5 strains), *Amycolatopsis* (4 strains), *Kribbella* (4 strains), *Nonomuraea* (4 strains), *Micromonospora* (3 strains), *Streptosporangium* (3 strains), *Kibdelosporangium* (2 strains), *Cellulosimicrobium* (1 strain) and *Isophtericola* (1 strain). Almost all rare actinomycetes were isolated from PLA-G medium except 1 strain of *Amycolatopsis*. So the PLA-G medium was considered to be a better medium for rare actinomycetes isolation, and these results might also influenced by different sources of the rhizosphere soil samples.

Strain XMU 506 and XMU 706 were analyzed by polyphasic taxonomy methods, including morphological, physiological, biochemical and molecular characteristics,

and identified as novel species of the genus *Kibdelosporangium* and *Kribbella*, respectively. Strain XMU 506 was named as *Kibdelosporangium lantanae*, and strain XMU 706 was named as *Kribbella mirabilis*.

Bioactivities of the total 178 actinomycetes were also detected in this study. The antimicrobial activity were detected by filtering paper method, using *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* and *Candida albicans* as indicators. There are 82 strains (46.1%) showed inhibitory effect on one or more indicator microorganisms. While the antitumor activity were detected by MTT method with human gastric cancer cells BGC-823, human liver cells HepG-2, human breast cancer cells MCF-7 and human lung cancer cells A549 as indicators. There are 60 strains (33.7%) showed inhibitory effect on one or more indicator cells.

**Key words:** rare actinomycetes; selective isolation; polyphasic taxonomy; bioactivity detection

## 1 前 言

### 1.1 放线菌在微生物系统学中的地位及研究进展

放线菌 (actinomycete) 是一类具有放射状菌丝, 高 (G+C) mol% 的革兰氏阳性细菌。最早由 Cohn<sup>[1]</sup> 从人泪腺感染病灶中分离出一株丝状病原菌——链丝菌 (*Streptothrix*) 而被发现。1987 年, Woese<sup>[2-4]</sup> 对 500 多种生物的 16S rRNA 序列进行了系统发育学分析, 提出著名的生命三域学说, 即古细菌域 (Archaeobacteria)、真细菌域 (Eubacteria) 和真核生物域 (Eucaryota)。在第一版《伯杰氏系统细菌学手册》<sup>[5]</sup> 中, 放线菌被归入原核生物界, 厚壁菌门, 分枝菌纲 (Thallobacteria), 放线菌目 (Actinomycetales)。

Stackebrandt 和 Woese<sup>[6-9]</sup> 依据 16S rRNA 序列的相似性以及 DNA-DNA 杂交和 DNA-rRNA 杂交结果构建了放线菌与其它生物间的系统发育树。研究结果表明放线菌属于高 (G+C) mol% 的革兰氏阳性细菌的一个分枝, 与链球菌属、乳杆菌属、芽孢杆菌属和梭菌属构成的梭状菌分枝有共同的起源。1997 年, Stackebrandt 等<sup>[10]</sup> 基于 16S rRNA 基因序列的分析, 提出放线菌纲这一新的分类等级, 并将其分为 5 个亚纲。《伯杰氏系统细菌学手册》第二版<sup>[11]</sup> 采纳了这个分类观点。随后各国系统学专家综合多种证据, 将放线菌提升至放线菌门。目前, 放线菌在微生物系统学中的分类地位为细菌域 (Bacteria), 放线菌门 (Actinobacteria), 放线菌纲 (Actinobacteria), 放线菌亚纲 (Subclass Actinobacteridae), 放线菌目 (Order I Actinomycetales)<sup>[12]</sup>。

放线菌种类丰富, 代谢途径、功能各异, 并且能够产生多种生物活性物质。在放线菌所产生的活性代谢产物当中, 抗生素最为引人注目, 其在历史上对抗生素工业的建立和发展发挥着巨大的作用<sup>[13,14]</sup>。在目前已发现的数万种天然抗生素当中, 约有 70% 是由放线菌所产生的, 其中许多都具有重要的医用价值, 如氯霉素类、四环素类、氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类、大环内酯类和蒽环类等抗生素。此外, 放线菌还产生其他多种生物活性物质, 如氨基酸、维生素、有机酸、生物碱、酶及酶的抑制剂和免疫调节剂等<sup>[12]</sup>。因此, 放线菌是目前在活性代谢产物挖掘及

新药研发上具有极大潜力的一类微生物资源,具有广泛的应用价值和巨大的经济效益。

## 1.2 稀有放线菌资源的研究进展

### 1.2.1 稀有放线菌的分类地位

放线菌门归属原核生物界细菌域,放线菌门仅有放线菌纲,放线菌纲有 5 个亚纲,放线菌亚纲有放线菌目和双歧杆菌目。迄今,放线菌门包含 23 个目、53 个科、约 230 个属<sup>[11]</sup>。链霉菌属是放线菌中数量最多的一个属,按照常规方法分离得到的放线菌约有 95%属于链霉菌属,其它属的放线菌仅占 5%左右。因此,链霉菌又称为常见放线菌,而这些除链霉菌属以外的所有放线菌被统称为稀有放线菌(rare actinomycetes),它是指那些通过常规分离方法分离得到的频率远低于链霉菌的放线菌类群,而非一个具体的分类单元<sup>[15]</sup>。

### 1.2.2 稀有放线菌的研究意义及研究进展

自 1944 年美国放线菌学家 Walksman<sup>[16]</sup>从链霉菌中发现链霉素以来,抗生素的研发进入了一个新的纪元,大量的新型抗生素陆续从放线菌中被分离得到,包括氯霉素、四环素类抗生素、大环内酯类抗生素等,其中大部分分离自链霉菌,约占总数的 45%,其他非链霉菌属的放线菌占总数的 16% (图 1.1)<sup>[17]</sup>。随着人们对链霉菌资源的不断开发,越来越多的已知化合物被重复分离出来,从链霉菌当中发现新的生物活性物质的几率也越来越小。近年来,人们逐渐将探索的目光转向非链霉菌属的放线菌,即稀有放线菌。由于稀有放线菌种类繁多,且具有不同于链霉菌的丰富多样的代谢途径,其产生的代谢产物具有结构多样化及活性独特等特点,因此稀有放线菌在人类探寻新的生物活性化合物进程中发挥着日益重要的作用。

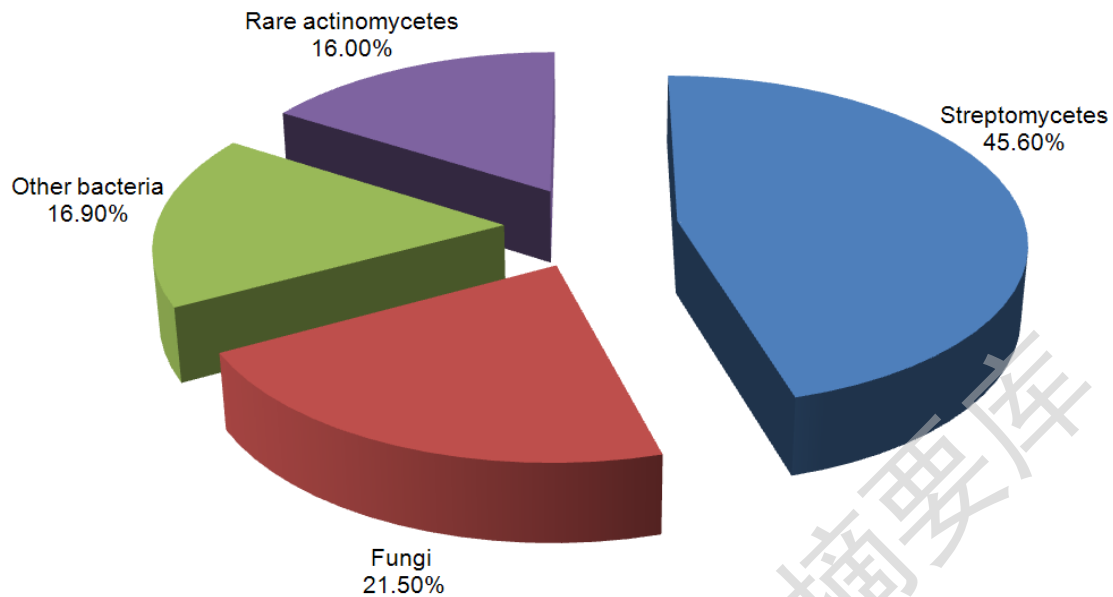
图 1.1 抗生素产生菌的分布<sup>[17]</sup>

Fig. 1.1 Distribution of different groups of microorganisms producing antibiotics

稀有放线菌所产生的一些抗菌类药物如利福平、万古霉素、庆大霉素、红霉素等已经成功应用于临床<sup>[18]</sup>。其中，从小单孢菌科 (*Micromonosporaceae*)、假诺卡氏菌科 (*Pseudonocardiaceae*)、高温单孢菌科 (*Thermomonosporaceae*)、诺卡氏菌科 (*Nocardia*)、链孢囊菌科 (*Streptosporangiaceae*) 及类诺卡氏菌科 (*Nocardioideae*) 等稀有放线菌当中发现的生物活性物质所占比例较大 (图 1.2)<sup>[17]</sup>。从小单孢菌属 (*Micromonospora*) 中分离得到的抗生素主要为大环内酯类、聚酮类、氨基糖苷类、萜环类、安莎类、生物碱、肽类等；诺卡菌属所产生的抗生素大部分具有抗细菌活性，少部分具有抗真菌以及抗肿瘤活性<sup>[19]</sup>；马杜拉放线菌属 (*Actinmadura*) 广泛分布在热带及亚热带，所产生的抗生素普遍具有抗细菌、真菌及抗肿瘤等活性，近年来发现的由马杜拉放线菌所产生的 IB-00208 抗生素对革兰氏阳性菌和肿瘤细胞均有体外抑制作用<sup>[20]</sup>；游动放线菌属 (*Actinoplanes*) 是稀有放线菌当中数量较多的一类，其产生的抗生素大多数是缩肽类和肽类，如绛红霉素 (purpuromycin)、替考拉宁 (teicoplanin) 及园霉素等<sup>[21]</sup>；拟无枝菌酸菌属 (*Amycolatopsis*) 所产生的抗生素具有抗细菌、抗肿瘤病毒等活性，如常见的万古霉素和利福平等，都具有很强的抗菌活性，并成功应用于临床当中<sup>[22]</sup>。

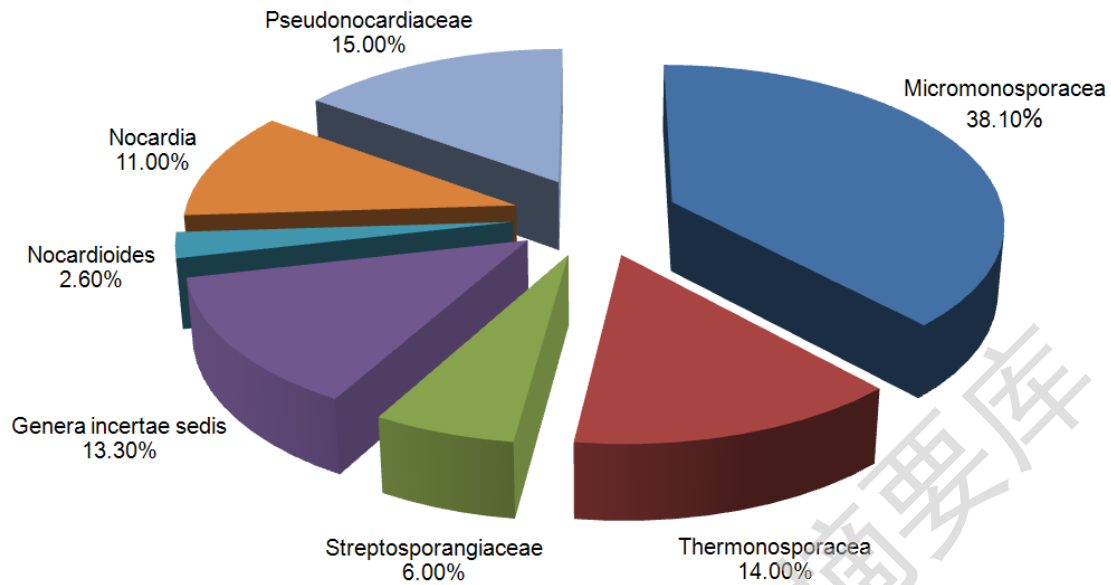


图 1.2 稀有放线菌产生的抗生素分布比例<sup>[17]</sup>

Fig. 1.2 Relative distribution of producing strains among rare actinomycetes

由此可见，稀有放线菌在生物活性物质挖掘及新药研发方面蕴含着巨大应用价值和广阔前景。随着科学技术的不断发展与革新，人们将对放线菌资源尤其是稀有放线菌资源进行更深入更全面的挖掘和开发，而稀有放线菌也将为生物多样性研究提供丰富多样的物种来源，为新型抗生素的发现提供了宝贵的资源。

### 1.3 稀有放线菌选择分离方法研究进展

近年来，尽管放线菌门日益壮大，新的属、种不断地被发现，然而分子生物学研究结果表明，目前人们所分离得到的放线菌仅仅是冰山一角，存在于自然界当中的绝大部分放线菌仍处于未可培养状态。由于分离方法和技术以及培养条件等方面的限制，仅有不到自然界放线菌总含量的 10% 的放线菌被人们发现并获得纯培养，并且其中绝大部分是链霉菌属菌株，稀有放线菌只占约 5% 的比例<sup>[23]</sup>。由此可见，稀有放线菌资源非常紧缺。过去常用稀释涂布平板法来进行放线菌的分离，但通常得到的都是较为常见的链霉菌，大多数的稀有放线菌必须采用具有高度选择性的分离方法和分离条件才能分离得到。因此探索新的选择分离方法则成为近年来国内外放线菌生物学研究和资源挖掘的一个重大课题。随着科学技术

的不断发展与进步,经过许多放线菌研究工作者们对放线菌形态特征、生理生化特征及生态特征等方面的不断钻研,尝试从不同条件、不同层次去探索新的选择分离方法,人们初步积累了一些在稀有放线菌筛选方面的经验与方法,主要从样品来源的选择、预处理方法、培养基的选择、富集培养及抑制剂的选择等方面进行考虑<sup>[24]</sup>。

### 1.3.1 样品来源的选择

放线菌广泛地分布在不同的自然环境以及人为的生态环境当中,通常以孢子或菌丝的状态存在。大多数的放线菌分布在通风良好、有机质较丰富的陆地环境当中,如森林或农田等肥沃的土壤、树林的枯枝落叶和草原等生态系统<sup>[25]</sup>。近年来,人们逐渐将目光投向一些特殊生境放线菌的分离,如海洋、盐湖、温泉、沙漠以及植物内生放线菌等,在海洋及盐湖环境中嗜盐放线菌生长较多,在高热环境中嗜热放线菌分布较多。生长在这些特殊环境当中的放线菌,由于被研究和开发的还比较少,因此很有可能从中发现更多新的分类单元,或具有特殊代谢途径的菌株,从而提高发现新的生物活性物质的几率。

但无论从放线菌的数量还是种类上来看,含量最多的还是在土壤当中,并受到多种土壤环境因子的影响,如土壤中的水分、有机质、温度及通气情况等<sup>[26]</sup>。此外,土壤中所生长的植被也是影响微生物类群的一个重要因素。植物根际土壤是微生物的重要栖息地,它是由植物、土壤和微生物共同构成的一个微环境,三者之间相互作用、相互影响。研究表明,植物根际土壤当中的微生物多样性要比非植物根际土壤中的丰富<sup>[27]</sup>。根际微生物的代谢活动对于整个微环境中的碳循环、植物固氮作用、磷酸化作用、调节植物根际微环境以及土壤当中废物和毒素的清除都起到十分重要的作用<sup>[28]</sup>。不同微生物在与植物和土壤进行相互作用的过程中,可能导致植物根际土壤的有机质含量、酸碱度等产生细微的差异,并反过来影响微生物的群落组成<sup>[29]</sup>。放线菌在植物根际土壤微生物类群当中也占有极其重要的地位,在玉米等农作物的根际土壤中,放线菌属于优势菌,其含量仅次于变形杆菌<sup>[28]</sup>。

因此,选择植物根际土壤样品作为稀有放线菌的分离源可能获得数量和种类较为丰富的微生物资源,并且由于不同植物和土壤的作用,有可能分离到某些能



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.